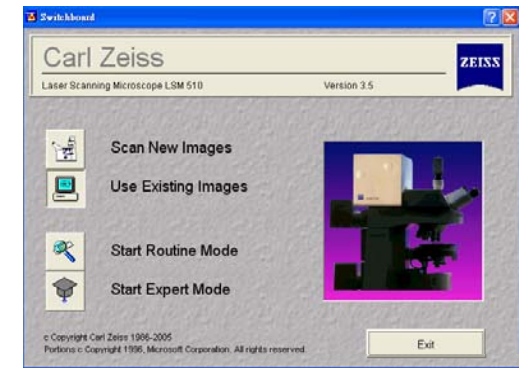


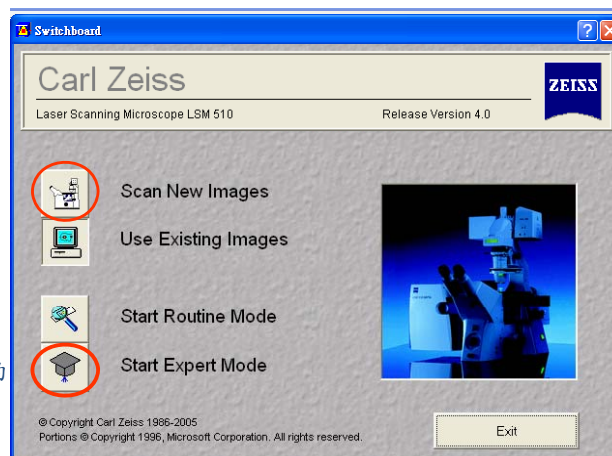
LSM 510 簡易操作說明

1. 進入軟體



開機畫面, 說明請見下頁

2. 進入開機畫面



掃圖模式

選擇可彈性變化的掃圖模式

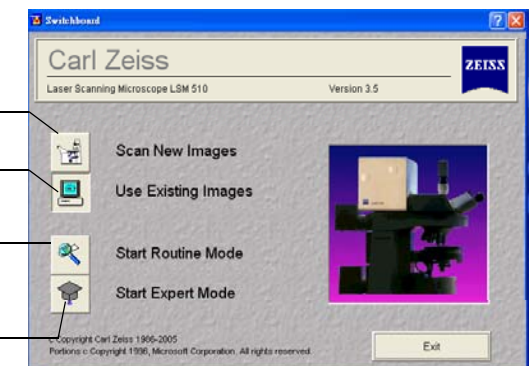
開機畫面說明

欲掃圖擷取影像, 電腦會與周邊系統做連結, 方能操作機器掃圖。

開啟、分析已存檔影像

使用已設定好的程序掃圖, 適用於個人化、固定不變的掃圖工作。

可多樣變化的掃圖模式, 在此模式中所有掃圖參數可隨時調整依情況而變動。適用於對系統操作稍微熟悉的使用者。



開機畫面說明

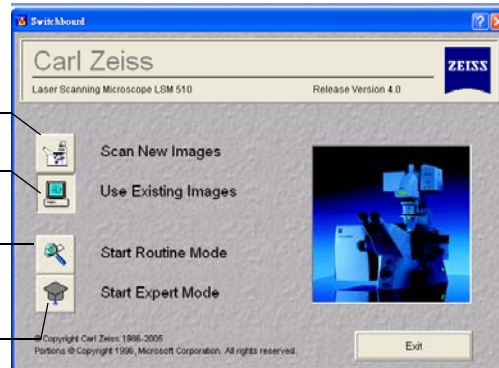
欲掃圖擷取影像，電腦會與周邊系統做連結，方能操作機器掃圖。

開啟、分析已存檔影像

使用已設定好的程序掃圖，適用於個人化、固定不變的掃圖工作。

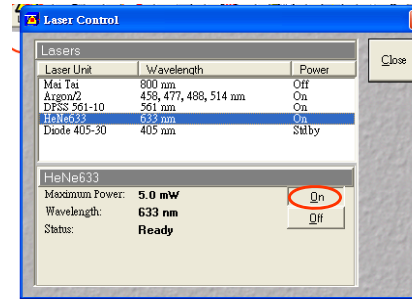
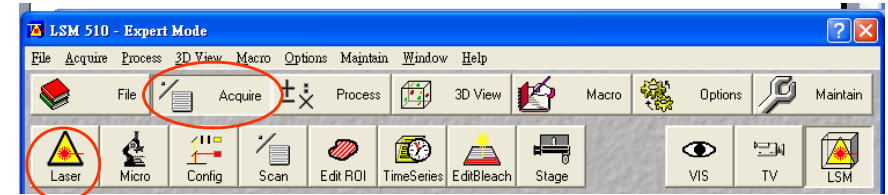
可多樣變化的掃圖模式，在此模式中所有掃圖參數可隨時調整依情況而變動。適用於對系統操作稍微熟悉的使用者。

台灣儀器行



5

3.雷射開啟

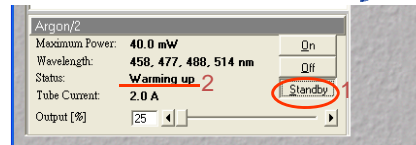
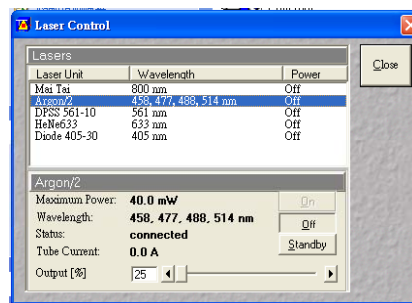


選擇需要的雷射進入,按下ON, Argon和Diode405則按standby, 請看下面兩頁說明

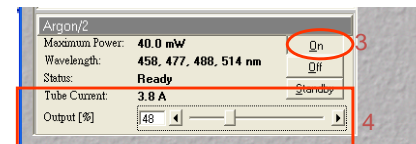
台灣儀器行

6

雷射開啟-Argon



1. 按下 standby 之後 status 會顯示 warming up
2. 等待 warming up 顯示成 Ready
3. 按下 "ON"

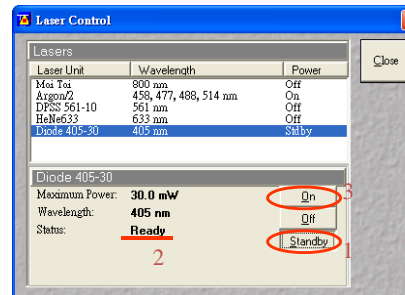


4. 拉動 Output%, 調整上方 Tube Current 至 5~6 A

台灣儀器行

7

雷射開啟-Diode 405nm

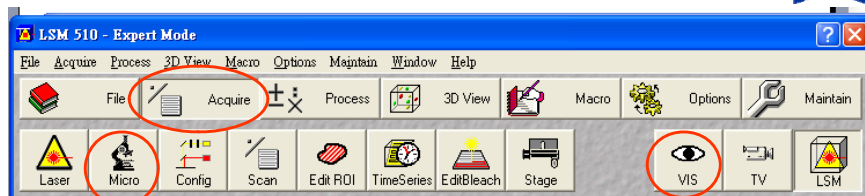


1. 按下 standby
2. status 會顯示 warming up, 等待顯示 Ready
3. 按下 On

台灣儀器行

8

4.控制顯微鏡，於目鏡下找到樣品焦距

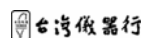


開啟控制顯微鏡控制頁面

以目鏡觀察標本

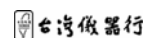
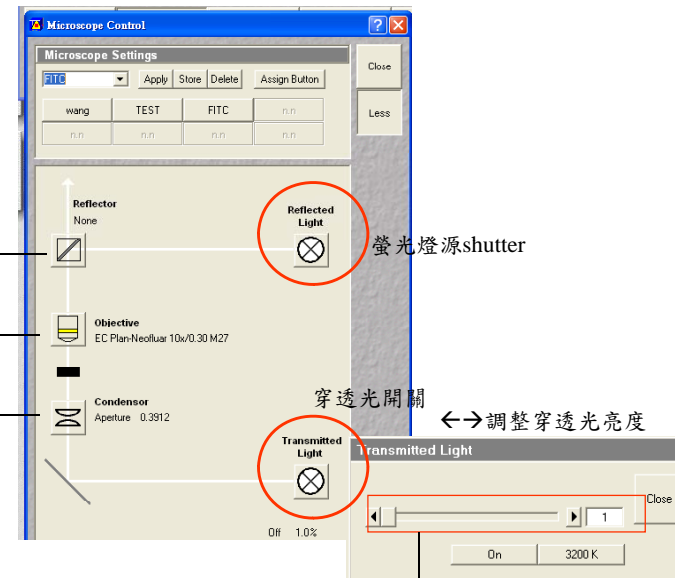
VIS模式之下

將樣品放於載物台上，在顯微鏡上找到樣品focus。顯微鏡控制可直接於機身手動操作或者由軟體當中的控制。顯微鏡控制與觀察模式切換請見下頁說明。

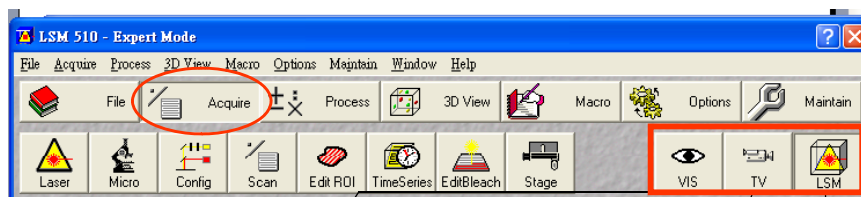


9

顯微鏡控制頁面說明



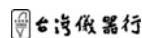
觀察模式切換說明



以目鏡觀察標本。此模式之下方能於目鏡用肉眼觀察到樣品。

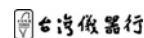
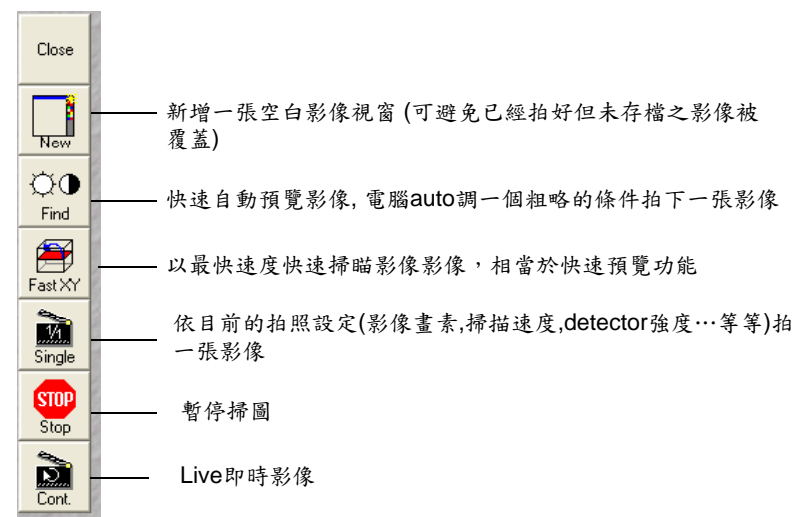
LSM模式觀察標本，於此模式之下方能於電腦螢幕上看見影像。

若有加裝AxioCam於顯微鏡上，可啟用此功能。相機模式，於此模式之下方能利用相機擷取影像，於電腦螢幕上看見影像。



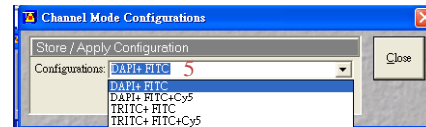
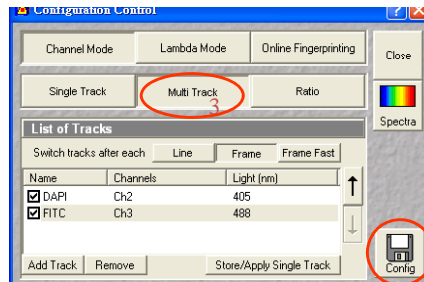
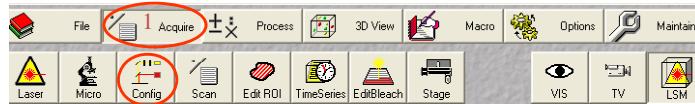
11

掃圖控制鍵功能說明

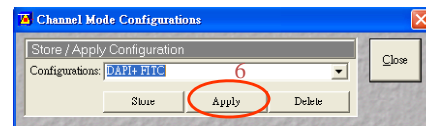


12

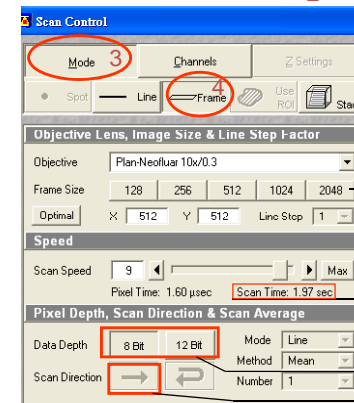
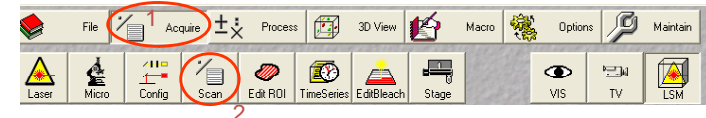
configuration設定-Multi track



Config按下後下拉選單會出現dye list, 選擇一個合適的dye組合, 然後Apply



scanning設定-Multi track



5 拍照前可以做以下調整所需拍照條件

顯示目前物鏡, 或者可由下拉選單換鏡頭

選擇需要的畫素, 一般建議512*512

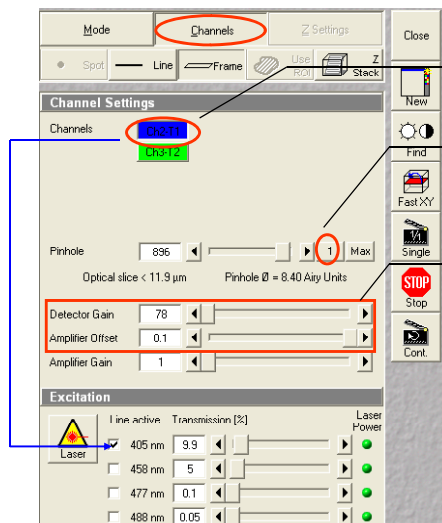
調整掃圖速度, 一般建議8以下

顯示在此速度下掃一張圖所需要的時間

選擇要8bit 影像或12bit影像

選擇掃圖方向, 一般選擇以單向掃圖

scanning設定-Multi track



1. 進入channels

2. 先選擇一個要調整的channel, 下方雷射會自動選

3. 按下1 會自動調整到合適的Pinhole大小

4. cont (continual)可以持續看到live影像

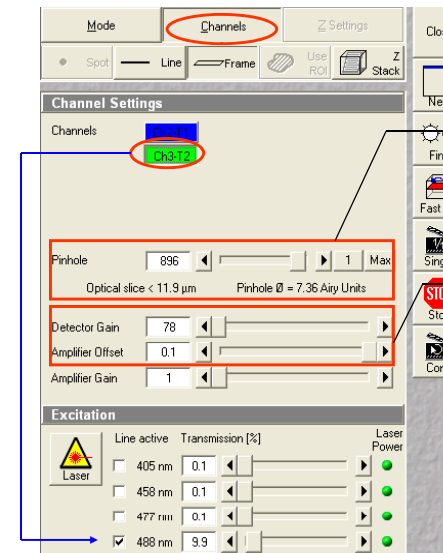
5. 上排調整訊號強弱

下排左拉可降低background

調整時必須要在cont按下的情況下才能在視窗內看見live的調整情況, cont下持續太久易照成sample bleach

6. 調整完畢後按下stop, 暫停掃圖

scanning設定-Multi track



2. 選擇下一個channel

3. 按下1 自動調整Pinhole為1AU或者可將pinhole調整到與上一個channel差不多大小使得optical slice厚度相同

4. cont (continual)可以持續看到live影像

5. 上排調整訊號強弱

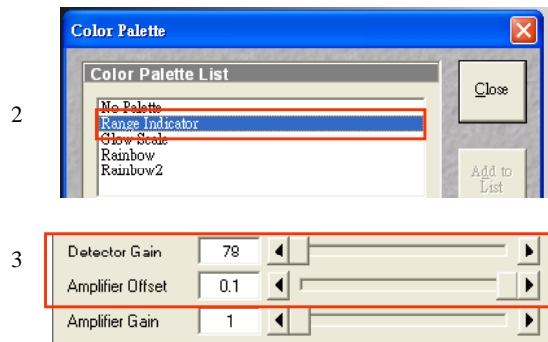
下排左拉可降低background

調整時必須要在cont按下的情況下才能在視窗內看見live的調整情況, cont下持續太久易照成sample bleach

6. 調整完畢後按下stop, 暫停掃圖

7. Single 用調整好的條件拍一張影像

掃圖提示

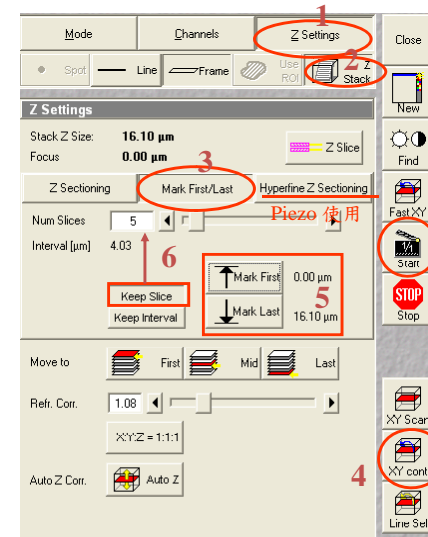


拍圖調整掃描條件時建議以此方式表現色彩,將有助於將顏色之intensity調到最佳分布,紅色表示飽和(調整detector gain), background 深藍表示全黑(調整amplifier offset)



17

Z section



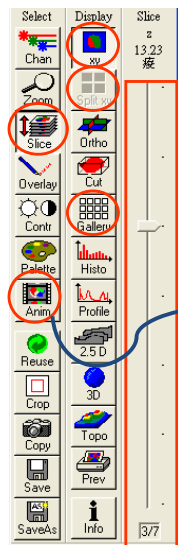
1. 進入Z setting
2. 進入Z stack
3. 進入 Mark First/Last
4. XY cont, live觀察
5. Cont 之下手動調整顯微鏡粗細調節輪找到觀察樣品厚度之最高點—按mark first 然後反方向轉動粗細調節輪找到欲觀察範圍的最底部—按mark last, 設定完畢後按stop, 避免樣品被bleach
6. keep slice 選擇在上面步驟選擇的厚度範圍之下想要拍幾張影像, 下行的 interval 會顯示每張圖片之間的z軸距離。
7. Start 開始執行Z section拍照



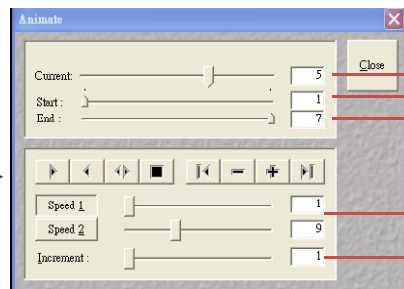
台灣儀器行

18

Z section



→ 可利用這些功能鍵來瀏覽已經拍完的Z section圖片



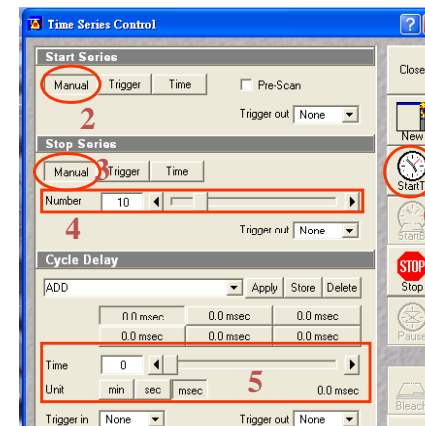
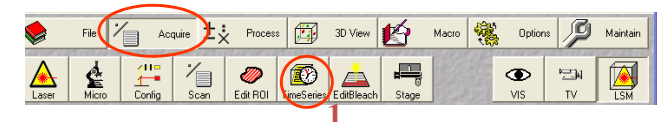
- 目前位置於第幾張
- 起始張數
- 結束張數
- 播放速度
- 每幾張影像播放一格

Anim可以將所拍下來的Z section以動畫影片來播放



19

Time series

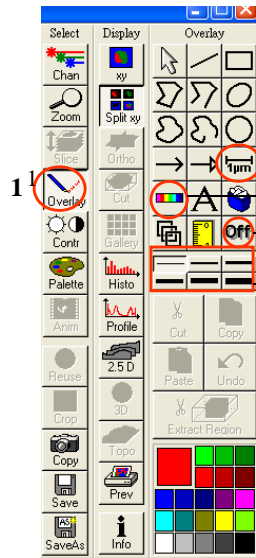


1. Scan control調整完拍照條件進入time series
2. 選擇manual手動開始
3. 選擇manual手動結束time series
4. 選擇重複拍照次數
5. 調整每次拍照的時間間距, 並選擇時間單位
6. StartT開始拍照

台灣儀器行

20

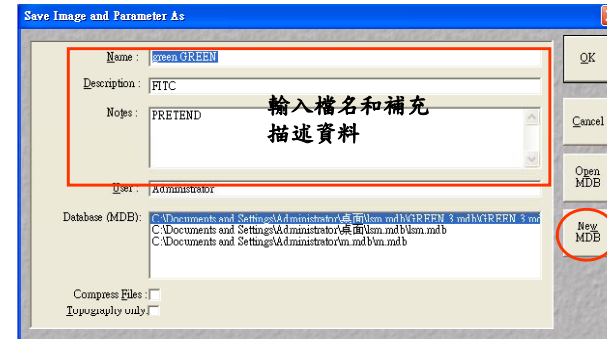
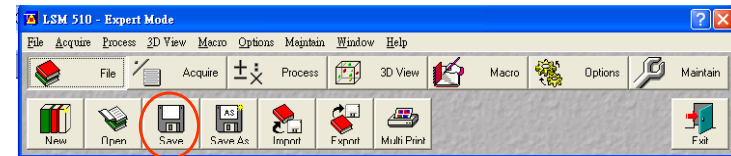
Scale bar



1. 進入overlay
2. 選擇尺規
3. 到圖片視窗拉出適當長度之scale bar

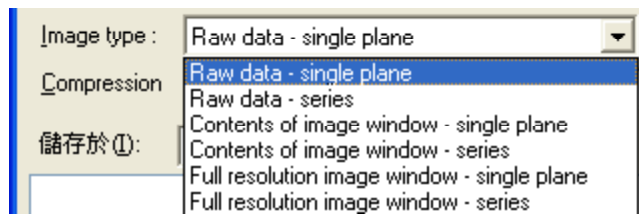
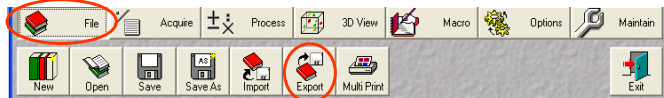
- 更改尺規顏色
- 選示或不顯示尺規
- 可選擇線條樣式

存檔—整個存下來



選擇一個現有的或者
Create NEW MDB為存檔
目的地

存檔—只存下圖片檔或者影片



single plane: 單張, 目前所顯示的

series : 一系列圖, 適用於Zstack, time series

Contents of image window

- 使用原則: 存下display視窗所顯示的內容
- 使用時機:
 - 1. 合併存下尺規或字標示等
 - 2. 單channel 或多channel之各種存圖組合都適用
 - 3. colocalization分布圖
- 範例:

(配合下頁)

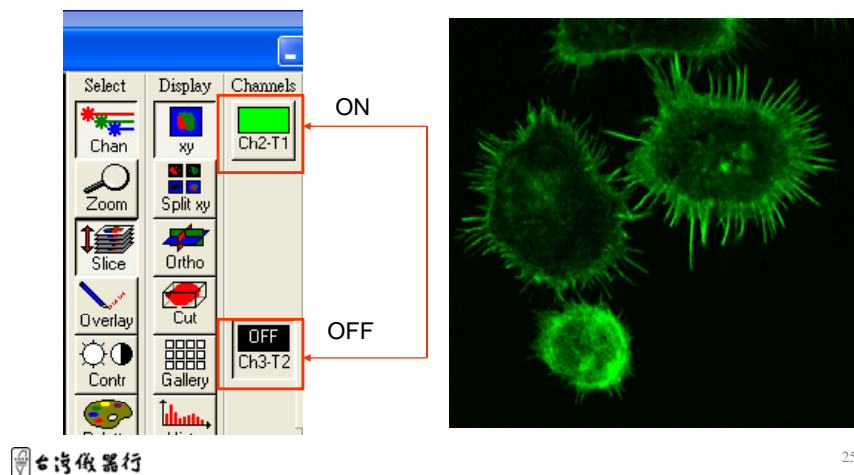
範例一單純存下單channel 影像

將其它Channel的顏色關掉, 只留下要存的channel然後→export→ contents of image Window→選擇單張(single plane)或者一系列(serial) (適用於Z stack, time series)

Contents of image window



範例一:只想要存下綠色Ch2-T1時,必須將Ch3-T2關掉



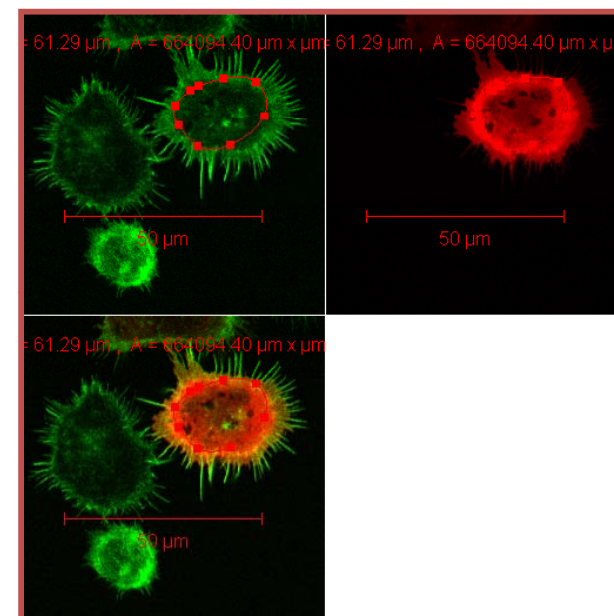
25

範例二, 包含尺規

Contents of image window



台灣儀器行

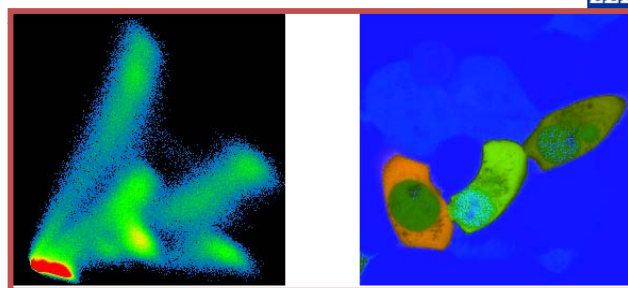


26

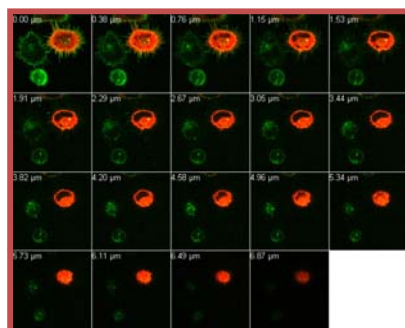
Contents of image window



範例三, Colocalization



範例四, Gallery



27

Raw data與Full resolution image window



1. 不管螢幕中的display
2. 選擇要的channel顏色, 不要存下的channel關掉, 以下圖為例所存下的圖將為紅色和綠色merge的影像

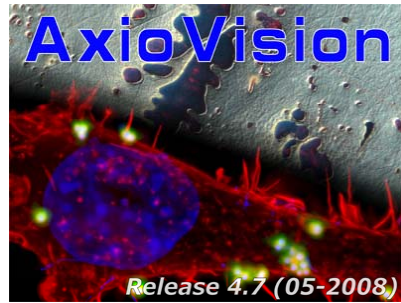
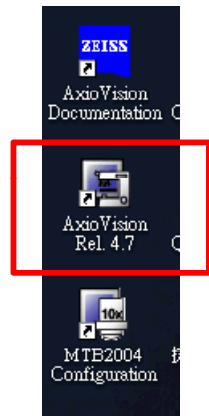


tif檔若選16bit在windows之下無法開啟, 要專業的看圖軟體才能開喔!!

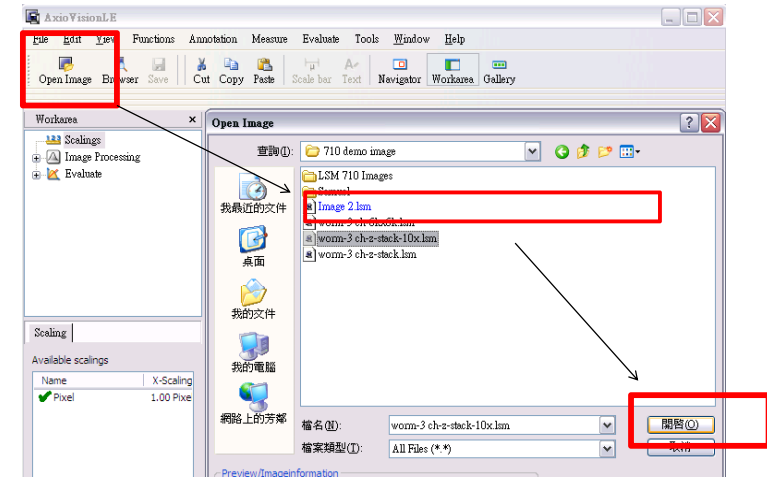
台灣儀器行

28

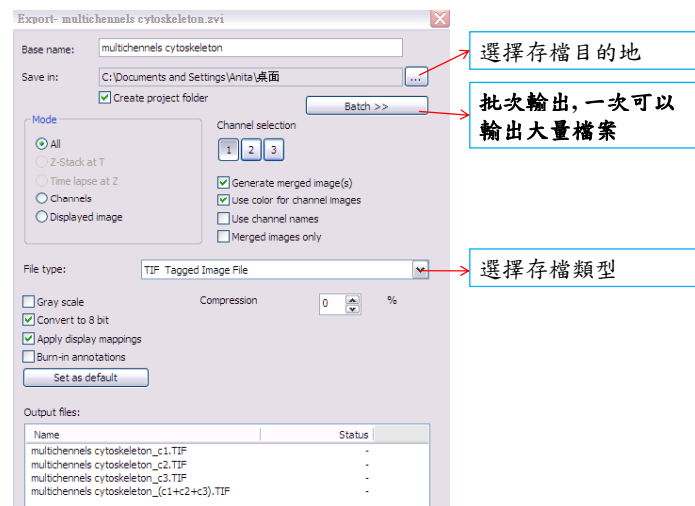
利用 AxioVision LE 將檔案輸出成tif, jpg, avi....等檔案



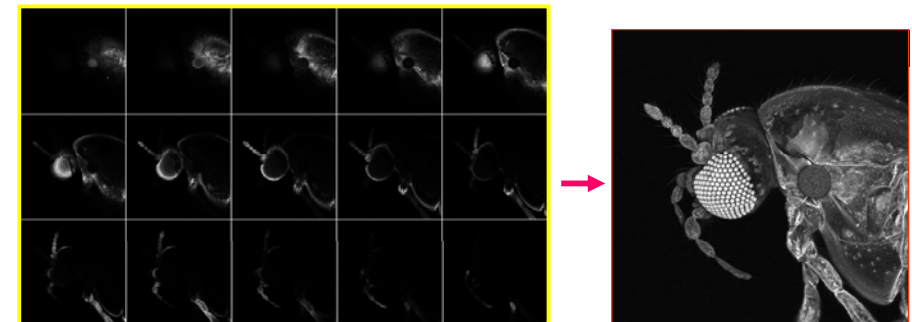
Export file with AxioVision LE 將檔案輸出成tif, jpg, avi....等檔案

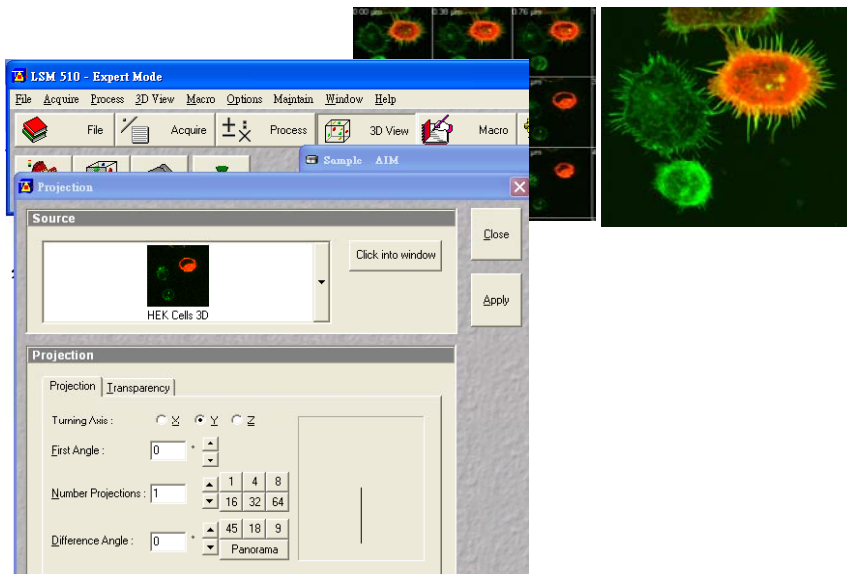


Export file with AxioVision LE 將檔案輸出成tif, jpg, avi....等檔案



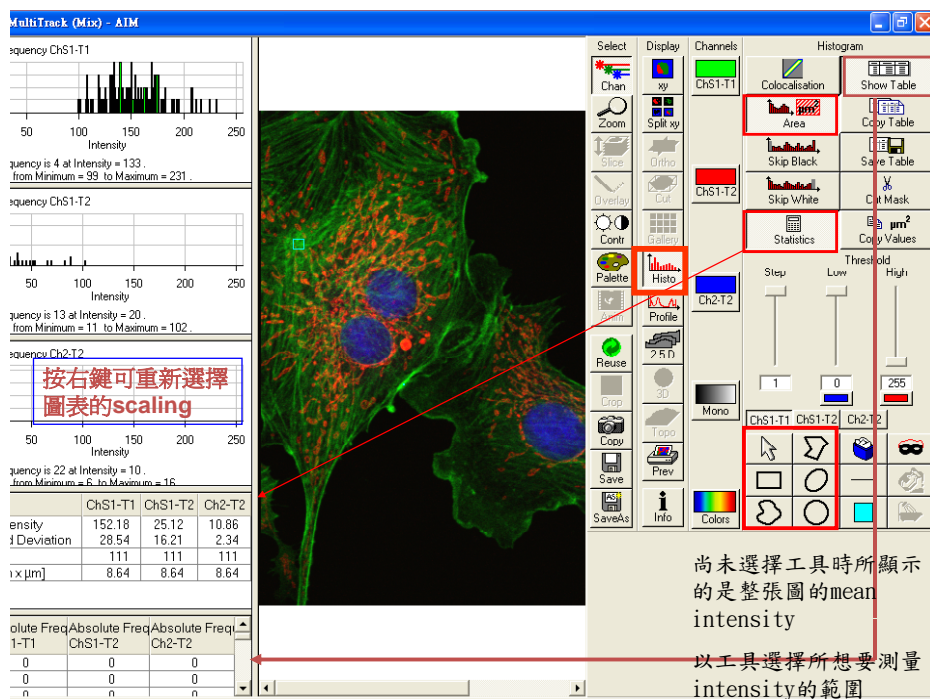
把多張Z section疊成一張 Enhance the depth of focus





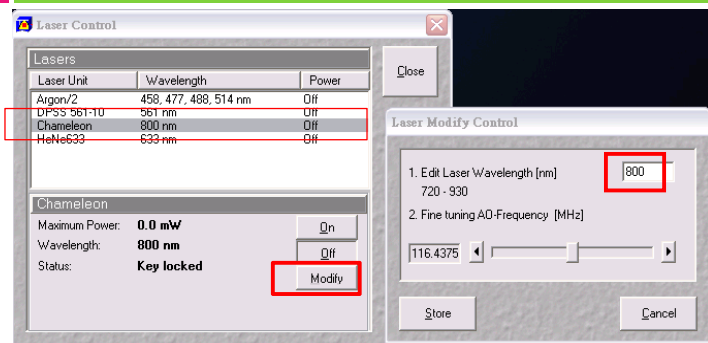
3D view → projection → first angle=0, no projection =1 → apply

測量intensity

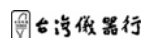


*
Anita Hsu, 徐華蔓
4F 272 Nanking East Road., Sec.3, Taipei 105, Taiwan
TEL: +886-2-2772-3333 ext.108
FAX: +886-2-2731-1700
E-Mail: anita_hsu@ticgroup.com.tw

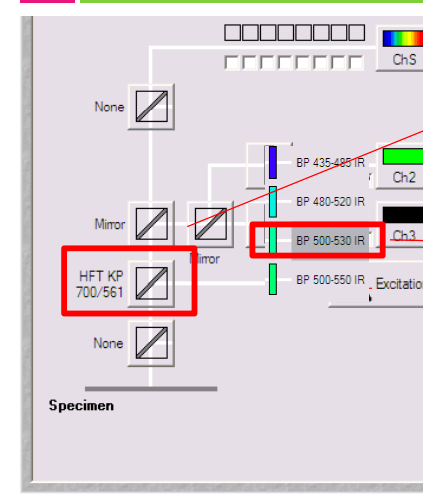
LSM 510 META NLO 雙光子掃描顯微鏡注意事項



1. Turn on the power
2. Waiting for status: **MODE LOCK** (not busy)
3. Modify → tunings the wavelength (ex 800nm) Tuning range: 690-1020nm

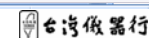


LSM 510 META NLO 雙光子掃描顯微鏡注意事項



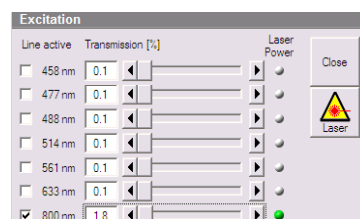
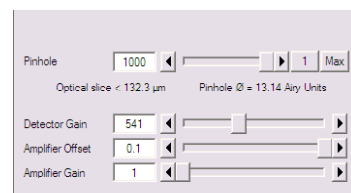
特性:
會反射561nm laser
Short pass 700nm: 比700nm短的光線可以通過

Bandpass 500-530 只有500~530nm的光線 才能通過此濾片
IR: 表示IR blocking, 波段的光線無法通過此濾片



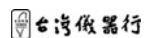
ANITA HSU

LSM 510 META NLO 雙光子掃描顯微鏡注意事項



使用MP laser掃圖時, 請記得pinhole要全開

MP雷射使用量的調整更要小心 (熱能產量較高)
MP雷射以每次增加0.1%為建議值(Ctrl鍵按住可每次調整0.1%的雷射強度)



ANITA HSU



*
Anita Hsu, 徐華蔓
4F 272 Nanking East Road., Sec.3, Taipei 105, Taiwan
TEL: +886-2-2772-3333 ext.108
FAX: +886-2-2731-1700
E-Mail: anita_hsu@ticgroup.com.tw

